

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y PERFIL FITOQUÍMICO DEL *Agave lechuguilla* TORREY

D. Ontiveros-Floriano, P.A. Sandoval-Palacios, M.A. Ávila-Damián, N.M. de la Fuente Salcido, Ma. S. Linaje-Treviño, C.M. Valencia-Castro

Bioprospección y Bioprecesos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Campus-Torreón. Blvd. Torreón Matamoros, km 7.5, CP 27104 Torreón, Coahuila, México
cmanuel53@yahoo.com.mx

RESUMEN:

Existe poca información sobre la actividad biológica de *Agave lechuguilla*, por lo que se llevó a cabo la presente investigación con el objetivo siguiente: Evaluar la actividad antibacteriana y el perfil fitoquímico de diferentes extractos de hoja, cogollo y piña de *A. lechuguilla*. Por tamizaje fitoquímico se determinó la presencia de metabolitos y grupos funcionales, así como la actividad antibacteriana de extracciones sucesivas con solventes por polaridad de *Agave lechuguilla*, con equipo soxhlet. Dichos extractos se evaluaron contra cultivos bacterianos de interés industrial por el método de difusión en pozos. Los extractos de las diferentes partes estudiadas del *A. lechuguilla*, mostraron actividad inhibitoria tanto en bacterias grampositivas y gramnegativas. No obstante, fueron bajos los valores de inhibición observados. Los resultados generados por el proyecto proporcionan información básica para la futura producción de biofármacos. La información generada también plantea el aprovechamiento sustentable de *A. lechuguilla* permitiendo una revalorización de sus metabolitos secundarios detectados en el perfil fitoquímico de los extractos.

ABSTRACT:

There is little information on the biological activity of the plant, which was conducted this investigation for the following purpose: evaluate the antibacterial activity and phytochemical profile of different extracts of the leaf, bud and pinecone of *Agave lechuguilla*. Via phytochemical screening, the presence of metabolites and functional groups was determined, and the antibacterial activity of successive extractions with solvents by polarity of *Agave lechuguilla* with a soxhlet extractor. These extracts were evaluated against bacterial cultures of industrial interest by the method of diffusion in wells. Extracts from different studied parts of *A. lechuguilla* showed inhibitory activity on both gram-positive and gram-negative bacteria. However, low values of inhibition were observed. The results generated by the project provide basic information for future production of biopharmaceuticals. The information generated also presents the sustainable use of *A. lechuguilla* allowing a revaluation of its secondary metabolites detected in the phytochemical profile extracts.

Palabras clave: *Agave Lechuguilla*, antimicrobianos, fitoquímicos.

Keywords: *Agave lechuguilla*, antimicrobials, phytochemicals.

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

El *Agave lechuguilla* Torrey es una especie perteneciente a la familia Agavaceae, subfamilia Agavoideae y subgénero asparagáceas; por lo que menciona Martínez *et al.*, (2011) se considerada de gran interés cultural y económico, por su utilización como materia prima de actividades económicas sustentables para la población de la región ixtlera.

Es excepcional por ser una de las dos especies de agaves con mayor distribución natural y productividad entre las especies de su mismo ambiente. Siendo la fuente natural de mayor recolección para autoconsumo y venta desde el siglo XIX al igual que la *Yucca carnerosana* (palma samandoca), *Euphorbia antisipylicata* (candelilla) *Prosopis* spp (mezquite) y *Opuntia* spp (los nopales) (Reyes et al., 2000). La lechuguilla es una planta xerófila que vive en zonas áridas y semiáridas del país, crece en condiciones desfavorables, de largos períodos de sequía y altas temperaturas. Nativa del sur de los Estados Unidos y en México representativa del Desierto de Chihuahua (Nobel y Quero, 1986). En México su distribución superficial aproximada es de 20 millones de hectáreas entre los estados de Coahuila, Nuevo León, Durango, San Luis Potosí, Tamaulipas, Zacatecas, Hidalgo y Oaxaca (Castillo et al., 2011).

El uso principal del *A. lechuguilla* es la obtención de fibra ó ixtle, la cual es de alta resistencia y durabilidad; lo que conlleva a una sobreexplotación de la planta, provocando el estudio de un mejor manejo agronómico y sustentable (Castillo et al., 2013; Juárez et al., 2004).

Hernández et al., (2005) identificó distintos compuestos bioactivos, en los que destacaron las saponinas y esteroides; a los que se les atribuyen efectos antifúngicos, antimicrobianos y antiinflamatorios. De igual manera Santos et al., (2012) identificó compuestos fenólicos (polifenoles) con actividad antioxidante, antiinflamatorios, antimicrobianos y probióticos. No obstante, sigue habiendo poca información sobre la actividad biológica de la planta, por lo que se llevó a cabo la presente investigación con el objetivo siguiente: Evaluar la actividad antibacteriana y el perfil fitoquímico de diferentes extractos de hoja, cogollo y piña de *Agave lechuguilla*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del material vegetal

La especie vegetal se recolectó en la Reserva Ecológica Municipal Sierra y Cañón de Jimulco, la cual se encuentra en la región sureste del municipio de Torreón Coahuila. Posteriormente se lavó para eliminar el exceso de tierra y cuerpos extraños. La planta se separó en hojas, cogollo y piña. Las muestras se secaron en un horno (Thermo) a $40\pm 3^{\circ}\text{C}$ por espacio de 48 h. Secuencialmente se molieron en un molino Wiley y se almacenaron hasta su uso.

Extracción del material vegetal

Se pesaron de 3 a 5 g de cogollo, piña y hojas individualmente. Cada muestra se procesó con un equipo de extracción soxhlet, utilizando solventes según el orden de polaridad para la obtención de los extractos (Khan et al., 2010).

Determinación de actividad antimicrobiana mediante difusión en pozos

La actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos fue evaluada en base a la metodología descrita por Barboza et al., (2007), la cual fue probada contra agentes causantes de la mastitis bovina. Éstos se incubaron en caldo soya tripticaseína (CST, DIBCO) a su respectiva temperatura toda la noche (Tabla I).

Posteriormente se tomó su OD y se resembró en CST fresco por 2 horas, midiendo nuevamente su OD e inoculándose al 0.7 % (v/v) con agar de pozos fundido y templado (AP; 0.012% agar bacteriológico BIOXON, 0.15% CST, p/v). A las placas solidificadas se les realizaron pocillos de 8 mm de diámetro.

A cada uno de estos pocillos se les añadió un volumen de 100 µL de cada extracto. Posteriormente se difundieron los extractos en refrigeración a 4°C toda la noche. Pasado este tiempo se incubaron por 24 horas a la temperatura respectiva de cada microorganismo. De control se utilizó una solución de yodo al 0.5%.

La determinación de la actividad antimicrobiana de cada extracto se realizó por medio de la fórmula:

$$A = \pi r^2 = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 = \pi \frac{D^2}{4}$$

De acuerdo al área (A) calculada según el diámetro (D) o radio (r) del halo de inhibición. Los resultados se expresaron en UA (Unidades Arbitrarias), definiéndose 1 UA= 1 mm² del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.

Tabla I. Microorganismos sensibles y temperatura de crecimiento			
Grampositivas	T (°C)	Gramnegativas	T (°C)
<i>Staphylococcus aureus</i>	35°	<i>Escherichia coli</i>	35°
<i>Streptococcus agalactiae</i>	35°	<i>Serratia marcescens</i> NIMA	35°
<i>Streptococcus uberis</i>	35°	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35°

Perfil fitoquímico

Se realizó el estudio para la identificación de grupos funcionales tales como: insaturaciones, taninos vegetales (Oxidrilos fenólicos), carbohidratos, coumarinas, alcaloides, esteroides y triptenos. Las pruebas fueron realizadas en base a la metodología descrita por Khan *et al.* (2010), la cual se aplicó a los extractos acuosos y metanólicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad antimicrobiana de los extractos de *Agave lechuguilla*

En este estudio, se utilizó la extracción con solventes por polaridad para obtener compuestos químicos fitosanitarios a partir de las partes secas de la planta. Los extractos de las diferentes partes estudiadas del *A. lechuguilla*, mostraron actividad inhibitoria en todas las bacterias grampositivas y gramnegativas. En de todos los extractos, se presentó una inhibición similar del crecimiento de prácticamente todas las bacterias patógenas. Sólo se ve una diferencia en el caso del extracto de acetona realizado a las fracciones cogollo y piña, los cuales presentaron una inhibición inferior al resto de los extractos. No obstante, es importante precisar que en general los grados de inhibición fueron bajos, lo cual

contrasta con lo reportado por Pimentel *et al.*, (2015), ya que en este trabajo los extractos acuosos de la lechuguilla tuvieron una importante inhibición de los patógenos anteriormente mencionados.

Tabla II. Inhibición promedio y desviación estándar de los extractos por polaridades probada contra bacterias involucradas en mastitis bovina.							
<i>E. coli</i>, cogollo							
Extracto	Hex	Ét	Cl	DCM	Ac	EtOH	MetOH
media	18.49	19.805	18.70625	19.1412	18.70625	18.925	17.64
Desviación	0.00	0.6293	0.3058	0.3093	0.3058	0.6151	0.00
<i>E. coli</i>, piña							
media	19.37	18.70625	20.25	18.9225	19.36	18.70625	17.32
Desviación	1.2445	0.3058	0.00	0.00	0.00	.3058	0.4414
<i>E. coli</i>, hoja							
media	19.3625	19.37	19.58625	19.37	18.28125	18.49	17.85625
Desviación	0.6222	1.2445	0.93868	1.2445	0.9068	62.20	0.89625
<i>Staphylococcus aureus</i>, cogollo							
media	8.82	19.805	11.52	18.065	20.7025	21.16	19.319
Desviación	12.4733	0.6293	16.2917	0.60104	0.00	0.00	3.2575
<i>Staphylococcus aureus</i>, piña							
media	47.8817	20.65625	24.5	18.9625	21.8842	47.8817	18.75625
Desviación	12.4722	5.4394	34.6482	2.4607	0.9591	12.47	2.752413
<i>Staphylococcus aureus</i>, hoja							
media	10.6030	19.805	19.53125	17.2225	22.0925	20.2525	21.6406
Desviación	14.9949	0.6293	27.6213	0.00	0.6646	0.6363	6.5407
<i>Streptococcus ubieris</i>, cogollo							
media	20.825	27.245	10.125	24.82625	18.0625	0.00	20.825
Desviación	44.5042	12.3814	14.3189	3.8696	0.00	0.00	4.5042
<i>Streotococcus uberis</i>, piña							
media	18.085	26.405	10.125	23.645	18.73625	0.00	9.245
Desviación	1.8031	13.5693	14.3189	4.8012	2.14	0.00	13.07
<i>Streptococcus uberis</i>, hoja							
media	18.29	27.30625	12.5	26.3237	29.73	0.00	8.61125
Desviación	1.5	10.6119	17.6776	6.64	17.69	0.00	12.17
<i>Streptococcus agalactie</i>, cogollo							
media	18.7	17.85125	17.43625	19.805	8.405	19.4	18.73
Desviación	0.3058	0.2987	0.8856	0.62	11.88	2.48	2.14
<i>Streptococcus agalactiae</i>, piña							
media	19.14125	17.2225	19.58	19.58	6.81	20.25	18.9325
Desviación	0.3093	0.00	0.3128	.3128	0.00	0.00	1.2303
<i>Streptococcus agalactiae</i>, hoja							
media	18.7062	17.64	17.4362	19.5862	17.4312	20.25	18.955
Desviación	0.3058	0.00	0.8856	0.9386	0.2952	0.00	1.8455
<i>Serratia marcescens</i> NIMA, cogollo							

media	17.225	18.07	18.06	17.85	18.7362	19.4	18.73
Desviación	0.5868	1.2020	0.00	0.8962	2.140	2.4890	2.140
Serratia marcescens NIMA, piña							
media	17.43	18.07	18.065	18.925	18.945	19.586	22.18
Desviación	0.2952	1.2020	0.6010	0.6151	1.8455	0.9386	3.9880
Serratia marcescens NIMA, hoja							
media	17.225	18.28	18.70	18.065	18.512	18.276	18.945
Desviación	0.5868	0.9068	0.305	0.6010	1.8243	0.3022	1.8455
Klebsiela pneumoniae, cogollo							
media	18.281	17.64	19.171	17.016	25.026	18.065	17.65
Desviación	0.9068	0.00	2.165	0.2916	7.3874	0.6010	1.1879
Klebsiela pneumoniae, piña							
media	18.065	17.431	18.945	17.225	17.64	18.492	17.436
Desviación	0.6010	0.2952	1.8455	0.5868	0.00	0.6081	0.8856
Klebsiela pneumoniae, hoja							
media	18.2912	17.642	18.291	17.64	19.146	19.146	18.276
Desviación	1.5114	0.5939	1.5114	0.00	0.9280	0.9280	0.3022

Perfil fitoquímico

Los extractos acuosos de la hoja de lechuguilla reveló positivamente todos los metabolitos con excepción de los alcaloides (Tabla III), estos resultados fueron similares a los extractos provenientes de la piña de la planta. Los extractos metanólicos de la hoja sólo dieron positivo para insaturaciones, aunque otros metabolitos dieron positivo en el cogollo, tales como insaturaciones, coumarinas, y esteroides y triptenos. Los mismos extractos dieron positivos para todos los metabolitos en la fracción de la piña (Tabla III).

Tabla III. Screening fitoquímico de los extractos acuosos y metanólicos del Agave Lechuguilla.										
Pruebas	Extractos Acuosos				Extractos Metanólicos					
	Hoja		Piña		Hoja		Cogollo		Piña	
Insaturaciones	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidrilos fenólicos	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Carbohidratos	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Coumarinas	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Esteroides y Triptenos	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista etnofarmacológico es prometedor el potencial de los extractos de *A. lechuguilla* para utilizarse contra bacterias patógenas, particularmente por su amplio espectro mostrado, no obstante fueron bajos los valores de inhibición observados. Los extractos de la lechuguilla tienen la ventaja

de no causar resistencia como los antibióticos. Los resultados generados por el proyecto proporcionan información básica para la futura producción de biofármacos con potencial aplicación terapéutica o como aditivos bioconservadores en la industria de los alimentos. La información generada también plantea el aprovechamiento sustentable de *A. lechuguilla* permitiendo una revalorización de sus metabolitos secundarios detectados en el perfil fitoquímico de los extractos.

Bibliografía

- Barboza, C., Vázquez, A., Bideshi, D., & Salcedo, H. 2007. Bacteriocin-like inhibitor substances produced by Mexican strains of *Bacillus thuringiensis*. *Archives of Microbiology*. 187, 117–126.
- Castillo, Q., Mares, A., & Villavicencio, G. 2011. Lechuguilla (*Agave lechuguilla Torr.*), planta suculenta de importancia económica y social de las zonas áridas y semiáridas de México. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras suculentas*. 8, 6-9.
- Castillo, Q., Sáenz, R., Narcia, V., & Vázquez, R. 2013. Physical and Mechanical properties of *Agave lechuguilla Torr.* Fiber under plantations of five provenances. *Revista de Ciencias Forestales*. 4, 78-91.
- Hernández, S., Lugo, C., Díaz, J., & Villanueva, S. 2005. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla Torrey*. *Revista digital Científica y Tecnológica (e-Gnosis)*. 3,1-9.
- Juárez, C., Valdez, D., & Duran, A. 2004. Natural fibers of lechuguilla as reinforcement in construction materials. *Revista de Ingeniería de Construcción*. 19, 83-92.
- Khan, R., Zakir, M., Afaq, S., Latif, A., & Khan, A. 2010. Activity of solvent extracts of *Prosopis spicigera*, *Zingiber officinale* and *Trachyspermum ammi* against multidrug resistant bacterial and fungal strains. *J Infect Dev Ctries*. 4, 292-300
- Martínez, B., Castillo, Q., & Mares, A. 2011. Caracterización y selección de sitios para plantaciones de Lechuguilla (*Agave lechuguilla Torr.*) en el estado de Coahuila. INIFAP.
- Nobel, P., & Quero, E. 1986. Environmental Productivity Indices for a Chihuahua Desert Cam Plant, *Agave lechuguilla*. *Ecology*. 67, 1-11.
- Pimentel, A., Valenzuela, A., Gutiérrez, E., Ontiveros, D., Sandoval, A., Rodríguez, V., Díaz, M., Hernández, F., Linaje, Ma., Villareal, J., De la Fuente, N., & Valencia, C. 2015. Estudio preliminar de la actividad biológica de *Aricarpus fissuratus*, *Prosopis glandulosa* y *Agave lechuguilla TORREY*. II Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencias en Procesamientos de Alimentos. XVII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Reyes, A., Aguirre, R., & Peña, V. 2000. Biología y aprovechamiento de *Agave Lechuguilla Torrey*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67, 75-58.
- Santos, Z., Marica, L., Cortes, C., Gutiérrez, A., & Uribe, J. 2012. Current Bioactive Compounds. *Bentham Science Publishers*. 8, 218-231.